N° 19. **A. Bairati** [2] und **F. E. Lehmann.** — Über die Feinstruktur des Hyaloplasmas von *Amoeba proteus* [1]. (Mit 2 Abbildungen.)

(Aus der Abt. für Zoophysiologie des Zoologischen Instituts, dem Theodor Kocher Institut und der Abt. für Elektronenmikroskopie des chemischen Instituts der Universität Bern.)

1. Fragestellung. Solange nur die lichtmikroskopischen Methoden zur Verfügung standen, galt das Zytoplasma einer Zelle, nach Entfernung aller sichtbaren Gebilde (Kern, Mitochondrien, Vakuolen etc.) als eine kolloidale durchsichtige oder hyaline Substanz, die kein besonderes morphologisches Interesse bot. Erst im Bereich des Submikroskopischen vermutet man heute für diesen wichtigen Teil der lebenden Zelle eine Fülle von Strukturen verschiedener Art (kugelige Mikrosomen und gestreckte Mikrofibrillen) (Frey-Wyssling 1949).

Wir haben nun das Hyaloplasma von *Amoeba proteus*, das als Prototyp des homogenen Zytoplasmas gilt, der elektronenmikroskopischen Untersuchung unterworfen. Am Hyaloplasma der Amoebe sind Lebendbeobachtungen leicht durchführbar. Für unsere Zielsetzung war es besonders erwünscht, die elektronenmikroskopischen (E.M.) Bilder so gut als möglich auf die in vivo beobachteten Zustände zu beziehen. *Amoeba proteus* eignet sich hiefür sehr gut, da sie schon von zahlreichen Autoren in lebendem wie in fixiertem Zustand untersucht worden ist. Das Hyaloplasma lebender Amoeben wurde mit dem Phasenkontrast-, dem Dunkelfeld- und dem Polarisationsmikroskop untersucht. Mit den gleichen Instrumenten wurde der Einfluss verschiedener Fixierungsflüssigkeiten auf die Plasmastruktur der Amoebe direkt verfolgt. Ferner wurden Fragmente des Hyaloplasmas, vor allem zentrifugierter Amoeben (Andresen), in unfixiertem Zustand oder nach An-

[1] Ausgeführt mit Unterstützung von Arbeitsbeschaffungsmitteln des Bundes und der Stiftung Dr. J. de Giacomi der SNG. und unter Benutzung eines Elektronenmikroskops (E.M.) von Trüb-Täuber.

[2] Gast des Theodor Kocher Instituts (Oktober bis Dezember 1950), jetzt Anatomisches Institut der Universität Bari, Italien.

wendung verschiedener Fixierer im E.M. untersucht und photographiert. Aus diesen vergleichenden Studien ergeben sich einige Beiträge zur Frage, wie weit die im E.M. gefundenen Bilder als den lebenden Strukturen äquivalent zu gelten haben.

2. Befunde. Als Hyaloplasma bezeichnen wir bei der Amoebe das gesamte hyaline zytoplasmatische Material, in dem sämtliche Vakuolen und sichtbaren Granula, sowie der Kern suspendiert sind, gleichgültig, ob es sich im Sol- oder im Gelzustand befindet. Relativ rein, das heisst ohne gröbere Einschlüsse, ist es vor allem in der hyalinen Kappe der vorstossenden Pseudopodien bei der normalen Amoebe sichtbar (Abb. 1 *a*). Es kann durch Zentrifugierung in einer breiten Schicht in der Amoebe konzentriert werden. Dann befindet es sich sehr häufig gänzlich im Gelzustand.

Im Phasenkontrast und noch deutlicher im Dunkelfeld erscheint das lebende Hyaloplasma als eine viscöse Suspension feinster Granula, die an den Grenzen der lichtoptischen Nachweisbarkeit liegen. Tritt das Hyaloplasma aus einer gequetschten Amoebe aus, dann zeigt der austretende Strom eine deutliche Strömungsdoppelbrechung. Sie klingt rasch ab, wenn die Strömungsgeschwindigkeit zurückgeht. Diese Beobachtungen lassen vermuten, dass das Hyaloplasma im Solzustand eine Flüssigkeit ist, in der längliche Elemente (Proteine ?) und zahlreiche kugelige Mikrosomen suspendiert sind. Das Plasmasol in nicht fixierenden Flüssigkeiten. Tritt das Sol aus der Amoebe in einem Medium aus, das aus destilliertem Wasser oder Ringerlösung oder Glucose oder Sacharose besteht, so verteilt es sich langsam ohne optisch nachweisbare Veränderungen. Gelangt das Sol dagegen in die Sulfat-, Mg- und Ca-reiche Zuchtlösung von Tubifex, so entsteht sofort

---

Abb. 1 *a*. — Pseudopodium einer Amoebe mit grosser Hyaloplasmakuppe, nach Fixierung mit Zenker. In der ursprünglich homogenen Kuppe grobes Gerinsel. 850 × (Phasenkontrast).

Abb. 1 *b*. — Hyaloplasma in destilliertem Wasser suspendiert und auf Folie aufpräpariert. Globuläre Partikel verschiedener Grösse. E.M.-Bild 21000 ×. Goldbeschattet.

Abb. 1 *c*.—Wie 1 *b* präpariert, Rand des Präparates. Faserige Komplexe, z. T. mit eingeschlossenen Mikrosomen. E.M.-Bild 21000 ×. Goldbeschattet.

Abb. 1 *d*. — Hyaloplasma in Mg- und Ca-haltiger Salzlösung suspendiert. Deutliche Reticularstruktur. Mikrosomen grossenteils in Fasern eingelagert. 21000 ×. Transparenzbild.

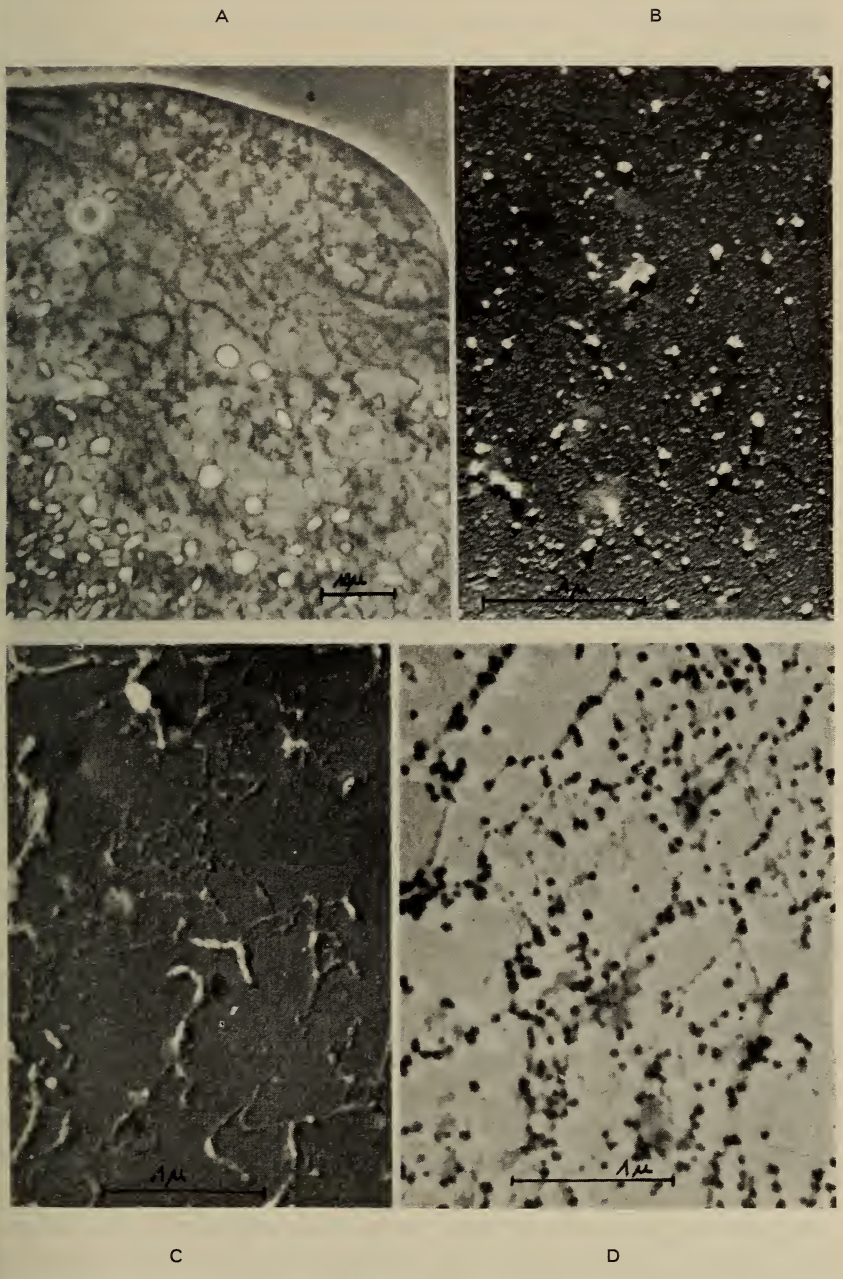


Abb. 1 *a-d*.

ein sehr feines fädiges Maschenwerk, in dem die Granula als Ketten eingelagert sind.

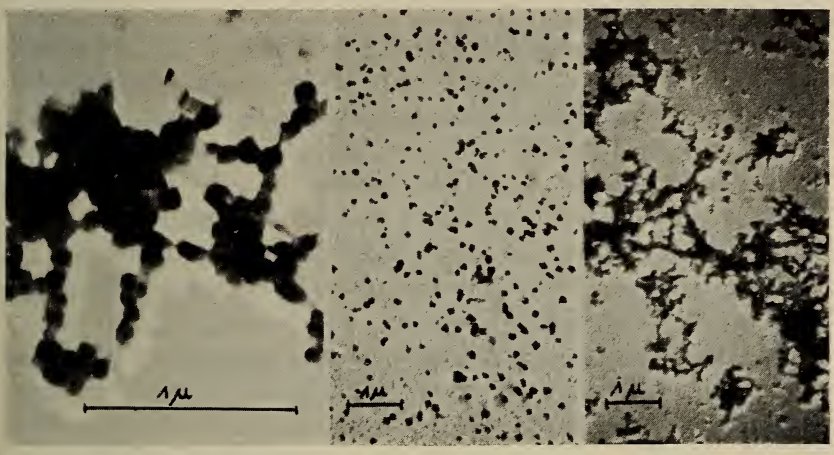
Das Plasmasol in fixierenden Flüssigkeiten. Ausfliessendes Sol bildet in Formol oder dem Gemisch von Bensley ein Netzwerk feinster Fäden und reichlich angehäufter Granula. In Osmiumsäure ist einzig das Aufhören der Brownschen Bewegung zu sehen, Fäden sind mit lichtoptischen Methoden nicht nachweisbar. Unmittelbar und massiv koaguliert wird das ausfliessende Sol durch saure Fixierer und alkoholische Gemische. Es entsteht ein derberes Netzwerk von Fäden, in dem sich überall dichte Gruppen von Granula befinden (s. Abb. 1 *a*). Im elektronenmikroskopischen Bild finden sich die erwähnten Strukturen wieder und lassen sich besser in ihre Einzelheiten auflösen. Wird das Plasmasol direkt aus destilliertem Wasser aufgetrocknet, so zeigen sich unverbundene kleine Granula, die sich wohl erst beim Auftrocknen zu grösseren Gruppen zusammenlagern (Abb. 1 *b*). Vermutlich aus der flüssigen Phase entstehen beim Auftrocknen zahlreiche fädige Strukturen verschiedener Dicke (Abb. 1 *c*).

Das in der Zuchtlösung von *Tubifex* leicht gelierende Hyaloplasma zeigt nach Auftrocknen ohne vorhergehende Fixierung ein sehr dünnfädiges und feinmaschiges Reticulum, in dem die Granula eingelagert sind (Abb. 1 *d*). Hier ist also die fädige und globuläre Phase des Hyaloplasmas zu einer Einheit verbunden.

Die verschiedenen Fixierer ergeben zum Teil feinere Reticula, wie Formol oder Osmiumsäure, oder sehr derbe Reticula wie die sauren Fixierer. Immer findet man jedoch in solchen Komplexen fibrilläre und globuläre Komponenten wieder.

3. Erörterung der Resultate. Nach allen unseren Befunden hat sich das Hyaloplasma von Amoeba als sehr reich an submikroskopischen kugeligen Gebilden und an fein dispergierten fädigen Proteinen erwiesen. Die ausserordentliche Labilität dieser Suspension geht deutlich aus unseren Versuchen hervor. Fliesst sie in destilliertem Wasser aus, so bildet sie kein Reticulum, während sie in Ca- und Mg-reicher Lösung rasch ein Netzwerk bildet. Dasselbe zeigen auch die E.M.-Bilder der unfixiert getrockneten Hyaloplasmasuspensionen. Wir schliessen daraus, dass schon Erdalkalijonen genügen, um das Plasmasol zum Gel werden zu lassen.

Ob sich hierbei die gelösten Proteine allein zu Fäden zusammenlegen, in die die kugeligen Teilchen miteinbezogen werden, oder ob sich auch kugelige Teilchen z. T. in Fäden umwandeln, können wir noch nicht entscheiden. Viele Indizien sprechen dafür, das das gelierte Hyaloplasma kontraktil ist und das Plasmasol vorwärts



A B C

Abb. 2 *a*. — Hyaloplasmafragment nach Vorfixierung mit Formalin. Kugelketten. 28000 ×.

Abb. 2 *b*. — Na-Caseinat. Globuläre Partikel. Vorfixierung Formalin + Essigsäure. 7000 × (Photo Wahli).

Abb. 2 *c*. — Na-Caseinat. Reticuläre Struktur. Vorfixierung Formalin. 7000 ×.

treibt (de Bruyn 1947). De Bruyn stellt sich dieses Gel als dreidimensionales Netzwerk von Proteinmolekülen vor, die durch Seitenketten mit einander vernetzt sind. An dieser Hypothese dürfte die Vorstellung des Netzwerks richtig sein, dagegen sind die Dimensionen wohl gröber (im E. M. gut sichtbare Fäden) und die Struktur komplexer (Fäden und Kugeln). Wir vermuten, in den von uns gefundenen Reticula die ersten konkreten Hinweise aud die Struktur des kontraktilen Gelreticulums und den reversibeln Mechanismus der Sol-Gelumwandlung bei der Amoebe vor uns zu haben.

Bei der Einwirkung der nicht oder nur wenig strukturvergröbernden Fixierer wie Formol oder Osmiumsäure, erhalten wir im E. M.-Bild relativ zarte Reticula, die bis zu einem gewissen

Grade den in vivo vorkommenden Reticula äquivalent sein dürften. Dagegen betrachten wir es als sehr unwahrscheinlich, auch mit diesen "schonenden" Fixierern Aequivalenzbilder des Plasma s o l s zu erhalten, da dieses bei seiner Labilität vermutlich sofort in ein Reticulum übergeht. Es ist also mit grosser Wahrscheinlichkeit damit zu rechnen, dass es heute auch mit "schonenden" Methoden nur schwer gelingen dürfte, E. M.-Bilder des Zytoplasmas zu erhalten, die ein zuverlässiges Aequivalenzbild von der Verteilung des Sol- und des Gelzustandes in der Zelle geben. Nur die Kombination verschiedener Untersuchungsmethoden an der lebenden Zelle wird es erlauben, die E. M.-Bilder kritisch zu interpretieren. In noch höherem Masse ist Vorsicht geboten bei der Interpretation von Material, das mit sauren Fixierern erhalten wurde. Hier liegt ein z. T. sehr derber Filz von koagulierten Bestandteilen des Hyaloplasmas vor. Immerhin sind auch hier in vielen Fällen noch die Grundbestandteile zu erkennen.

Die hier ausgesprochene Mahnung zur Vorsicht in der Beurteilung von E. M.-Bildern des Hyaloplasmas darf aber nicht im schematischer Weise auf alle anderen Zellstrukturen ausgedehnt werden. Sie gilt wohl in erster Linie für Suspensionen labiler und wasserreicher Kolloidgebilde (s. a. Frey-Wyssling 1949, S. 300) und nicht unbedingt für stabilere Gelkörper wie Muskel- oder Sehnenfasern. Wir haben neuerdings in Zusammenarbeit mit H. Wahli gefunden, dass Kaseinlösungen instruktive Modelle sehr labiler Kolloidlösungen sind. Hier können je nach der Präparationsmethode grosse oder kleine Kugeln oder Fragmente von Reticula erhalten werden, die aus Kugelketten bestehen. Alle diese Gebilde haben eine auffällige Aehnlichkeit mit den Gebilden, die sich in den E. M.-Bildern des Hyaloplasmas der Amoebe finden. In Zukunft wird weiter zu prüfen sein, wie weit das Verhalten von Proteinlösungen übereinstimmt mit demjenigen des Hyaloplasmas der Amoebe.

4. S u m m a r y . With several optical methods the hyaloplasm of the ameba has been studied in normal state and under the action of different fixing fluids. Preparations of these various reaction types of the hyaloplasm have been studied with the electron microscope. We come to the conclusion that the hyaloplasm represents a solution of proteins in which numerous very small

microsomes are suspended. This system is capable under the influence of Ca- or Mg-Ions to form a very fine network of fibres, which include also the microsomes and to build up a presumably contractile gel-like system. This mass apparently can transform itself in vivo again into a sol. It remains a sol when squeezed out in distilled water. This very labile and highly hydrated system produces in the case of osmic acid or formalin rather fine networks, in the case of acid mixtures a rather coarse coagulum of fibres and microsomes. It is demonstrated that the behaviour of solutions of caseine shows some striking structural analogies to that of the hyaloplasm of *Amoeba proteus*.

LITERATUR

1942. Andresen, N. *Cytoplasmic components in the amoeba Chaos Chaos* Linné. C.R. Lab. Carlsberg, Sér. chim. *24*, 139-184.
1949. Bairati, A. *Alcuni dati di microscopia elettronica sul protoplasma della Amoeba proteus.* Boll. della soc. ital. di biol. sperim., *25*.
1947. de Bruyn, P. P. H. *Theories of amoeboid movement.* Quart. Rev. biol., *22*, 1-24.
1949. Frey-Wyssling, A. *Physicochemical behaviour of Cytoplasm.* Research, *2*, 300-307.
1950. Lehmann, F. E. *Globuläre Partikel als submikroskopische Elemente des tierischen Zytoplasmas.* Exper., *6*, 382.
1931. Mast, S. O. *Locomotion in Amoeba proteus.* Protoplasma, *14*, 321-330.

N° 20. **Walter Fritz.** — Über die Möglichkeit einer Übertragung von Toxoplasma vom Hund auf den Menschen und über das Vorkommen des Erregers bei Tieren. (Mit 2 Tabellen)

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Basel. Vorsteher: Prof. Dr. med. J. Tomcsik.)

Toxoplasma gehört in die Gruppe der Protozoa (Splendore, Sabin, u. a); die systematische Stellung innerhalb derselben ist vorläufig noch unklar. Verschiedene Autoren sind der Ansicht,